

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *S. aureus*

Bakteri *Staphylococcus* kali pertama dikenal oleh Pasteur (1880) dan Ogston (1881), dari pus seorang penderita. Selanjutnya, Becker pada tahun 1883 berhasil melakukan biakan murni dan Rosenbach (1884) untuk kali pertama mengetahui adanya hubungan kausal antara timbulnya suatu penyakit osteomielitis dengan bakteri *Staphylococcus* (Dzen *et al.*, 2010). *S. aureus* merupakan bakteri komensal dalam tubuh manusia tapi juga sering menjadi penyebab penting suatu infeksi (Wertheim, 2005).

2.1.1 Klasifikasi

Genus *Staphylococcus* sedikitnya memiliki 40 spesies. Tiga spesies utama yang memiliki kepentingan klinis adalah *S. aureus*, *S. epidermidis*, dan *S. saprophyticus*. *S. aureus* bersifat koagulase-positif, yang membedakannya dari spesies lainnya (Brooks *et al.*, 2010).

Taksonomi *S. aureus*:

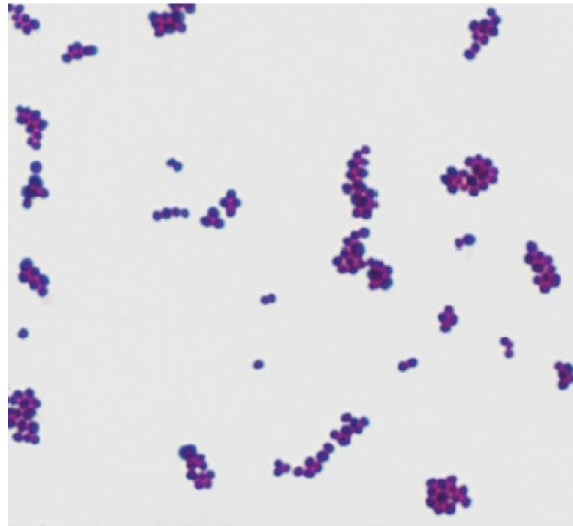
Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Modric, 2011).

2.1.2 Sifat dan Morfologi

S. aureus termasuk dalam flora normal tubuh. Bakteri ini ditemukan lebih dari 40% berada pada hidung, kulit, aksila, dan perineum manusia (Gillespie, 2000). *S. aureus* bersifat aerob dan anaerob fakultatif, tes katalase positif dan tahan hidup dalam lingkungan yang mengandung garam dengan konsentrasi tinggi (halofilik), misalnya NaCl 10%. *S. aureus* adalah bakteri Gram positif yang berbentuk kokus bergerombol seperti anggur pada pewarnaan Gram (Chiller *et al.*, 2001). *S. aureus* berbentuk bulat (spheres) atau kokus dengan diameter 0,4-1,2 μm (rata-rata 0,8 μm). Hasil pewarnaan yang berasal dari perbenihan padat akan memperlihatkan susunan bakteri yang bergerombol seperti buah anggur, sedangkan yang berasal dari perbenihan cair bisa terlihat bentukan bakteri lepas sendiri-sendiri, berpasangan atau rantai pendek yang pada umumnya terdiri lebih dari empat sel (Dzen *et al.*, 2010). Dengan pewarnaan Gram bersifat Gram positif. Namun dalam keadaan tertentu dapat pula bersifat Gram negatif, misalnya *S. aureus* yang berasal dari bagian tengah koloni, *S. aureus* yang mengalami fagositosis oleh sel, dan *S. aureus* yang berasal dari perbenihan yang sudah tua (Dzen *et al.*, 2010).

S. aureus bersifat *non-motile* tidak membentuk spora. Sebagian besar spesies memiliki kebutuhan gizi kompleks relatif, tetapi pada umumnya mereka membutuhkan sumber organik nitrogen, dari 5 sampai 12 asam amino esensial, misalnya *arginine*, *valine*, dan vitamin B, termasuk *thiamine* dan *nicotinamide* (Harris *et al.*, 2002). Bakteri tersebut tidak dapat bergerak, meskipun demikian dengan cara tetes gantung dapat ditemukan suatu gerakan Brown. Beberapa galur dari *S. aureus* dapat membentuk kapsul dan medium perbenihan yang

mengandung bikarbonat dapat merangsang pembentukan kapsul ini (Dzen *et al.*, 2010).



Gambar 2.1 Pada pewarnaan Gram menunjukkan bakteri *S. aureus* bersifat Gram positif, berbentuk kokus dengan berpasangan, tetrad, dan kluster. Perbesaran 1000x (Brooks *et al.*, 2010).

2.1.3 Perbenihan

Pembiakan *S. aureus* memerlukan suhu optimal antara 28-38°C, atau sekitar 35°C. Apabila bakteri tersebut diisolasi dari seorang penderita, suhu optimal yang diperlukan adalah 37°C. pH optimal untuk pertumbuhan *S. aureus* adalah 7,4 (Dzen *et al.*, 2010). Suhu yang paling bagus untuk membentuk pigmen adalah 20-25°C. *S. aureus* mudah berkembang pada sebagian medium bakteriologi dalam lingkungan aerobik atau mikroaerofilik (Brooks *et al.*, 2007). Pada umumnya *S. aureus* dapat tumbuh pada medium-medium yang biasa dipakai di laboratorium bakteriologi misalnya sebagai berikut.

a. *Nutrient Agar Plate* (NAP)

Medium tersebut penting untuk mengetahui adanya pembentukan pigmen dan *S. aureus* akan membentuk pigmen berwarna kuning emas. Koloni yang tumbuh berbentuk bulat, berdiameter 1-2 mm, konveks dengan tepi rata, permukaan mengkilat dan konsistensinya lunak (Dzen *et al.*, 2010).

b. *Blood Agar Plate* (BAP)

Medium tersebut dipakai secara rutin. Koloninya akan tampak lebih besar, dan pada galur yang ganas biasanya memberikan zona hemolisa yang jernih disekitar koloni yang mirip koloni *Streptococcus β -hemolyticus* (Dzen *et al.*, 2010).

Pada umumnya, untuk membiakkan *S. aureus*, perlu medium yang mengandung asam amino dan vitamin-vitamin, misalnya: threonin, asam nikotinat, dan biotin (Dzen *et al.*, 2010).

Untuk isolasi primer dari infeksi campuran, terutama yang berasal dari tinja atau luka-luka, perlu medium yang mengandung garam NaCl konsentrasi tinggi misalnya 7,5% atau medium yang mengandung polimiksin (*Polymixin S. Medium*) (Dzen *et al.*, 2010).



Gambar 2.2 Koloni bakteri *S. aureus* pada *blood agar plate* setelah inkubasi 24 jam. Koloni berwarna kuning keabuan dengan diameter 3-4 mm pada cawan 10 cm. Koloni dikelilingi zona bersih hemolisis dengan diameter sekitar 1 cm (Brooks *et al.*, 2010).

2.1.4 Daya Tahan Bakteri

S. aureus merupakan salah satu bakteri yang tidak membentuk spora yang paling tahan terhadap bahan kimia. Untuk itu, salah satu galur

Staphylococcus tertentu seperti *S. aureus* ATCC 29213 dapat digunakan sebagai standart tes evaluasi bahan antiseptika atau antibiotika (Dzen *et al.*, 2010).

S. aureus relatif resisten terhadap pengeringan, panas (bakteri ini tahan terhadap suhu 50°C selama 30 menit), dan terhadap natrium klorida 9% tetapi mudah dihambat oleh zat kimia tertentu, seperti heksaklorofen 3% (Brooks *et al.*, 2010).

Bakteri ini dapat bertahan hidup sampai beberapa bulan dalam suhu kamar pada agar miring atau keadaan beku, dan dapat hidup selama 14-16 minggu dalam keadaan kering pada pus. Daya tahan terhadap bahan kimia bervariasi. Dalam fenol 2% mati dalam waktu 15 menit, dalam hidrogen peroksida 3% mati dalam waktu 3 menit, dan dalam tinctura iodii mati dalam waktu 1 menit (Dzen *et al.*, 2010).

Beberapa galur dari *S. aureus* menghasilkan enzim penisilinase sehingga resisten terhadap golongan obat penisilin, tapi biasanya masih peka terhadap golongan penisilinase, misalnya metisilin dan oksasilin. Namun demikian, juga telah dikenal galur *Staphylococcus* yang resisten terhadap metisilin yang dikenal *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Methicillin Resistant Staphylococcus epidermidis* (MRSE). Galur ini sering menimbulkan masalah di klinik karena sifatnya yang resisten β -laktam, tetapi biasanya masih peka terhadap vankomisin atau golongan aminoglikosida (Dzen *et al.*, 2010).

2.1.5 Struktur Antigen

Dinding sel *S. aureus* terbentuk dari peptidoglikan, asam teikoat, dan protein A (Vasanthakumari, 2007). Peptidoglikan, polimer polisakarida yang mengandung subunit-subunit yang terangkai, merupakan eksoskelet yang kaku pada dinding sel. Peptidoglikan dihancurkan oleh asam kuat atau pajanan

terhadap lisozim. Peptidoglikan memicu produksi interleukin-1 (pirogen endogen) dan antibodi opsonik oleh monosit, dan dapat menjadi *chemoattractant* untuk lekosit polimorfonuklear, yang memiliki aktivitas mirip-endotoksin, dan mengaktifkan komplemen (Brooks *et al.*, 2007).

Antigen lain yang dimiliki *S. aureus* adalah asam teikoat, yang merupakan polimer gliserol atau *ribitol* fosfat. Jika berhubungan dengan peptidoglikan dapat menjadi antigenik. Antibodi anti-asam-teikoat yang dapat dideteksi dengan difusi jel dapat ditemukan pada pasien endokarditis aktif yang disebabkan oleh *S. aureus* (Brooks *et al.*, 2007). Asam teikoat juga dapat mengaktifasi komplemen melalui *alternative pathway* dan menstimulasi makrofag untuk mensekresikan sitokin (Kayser *et al.*, 2005).

Sebagian besar bakteri *S. aureus* pada dinding selnya mengandung suatu komponen yang disebut protein A (Dzen *et al.*, 2010). Protein A berikatan dengan bagian Fc dari molekul IgG kecuali IgG₃. Bagian Fab dari IgG yang terikat dengan protein A bebas berikatan dengan antigen spesifik. Protein A menjadi reagen yang penting dalam imunologi dan teknologi laboratorium diagnostik, misalnya protein A yang berikatan dengan molekul IgG yang berhadapan secara langsung dengan antigen bakteri spesifik akan mengaglutinasi (Brooks *et al.*, 2007).

Beberapa *strain S. aureus* memiliki kapsul dan menjadi lebih virulen dibandingkan dengan *strain* yang tidak berkapsul (Vasanthakumari, 2007). Kapsul polisakarida dapat menghambat fagositosis oleh lekosit polimorfonuklear kecuali terdapat antibodi spesifik. Sebagian besar *strain S. aureus* mempunyai koagulase atau faktor penggumpal pada permukaan dinding sel, koagulase

terikat dengan fibrinogen secara nonenzimatik, sehingga menyebabkan agregasi bakteri (Brooks *et al.*, 2007).

2.1.6 Metabolit Bakterial

S. aureus dapat menyebabkan penyakit baik melalui kemampuannya untuk berkembang biak dan menyebar luas di jaringan serta dengan cara menghasilkan berbagai substansi ekstraseluler (Brooks *et al.*, 2007). *S. aureus* dapat menghasilkan bahan metabolit yang diklasifikasikan dalam tiga bentuk, yaitu: metabolit non-toksin, eksotoksin dan enterotoksin.

2.1.6.1 Metabolit Non-Toksin

1) Antigen permukaan (materi kapsul)

Antigen kapsul berfungsi untuk:

- Mencegah fagositosis
- Mencegah reaksi koagulasi
- Mencegah melekatnya bakteriofag (Dzen *et al.*, 2010).

2) Koagulasi

Koagulasi adalah suatu antigen protein yang dihasilkan oleh *S. aureus*. Antigen protein ini bersifat *clotting agent*, proteolitik dan esterolitik (Dzen *et al.*, 2010). Terdapat dua bentuk koagulasi, yaitu:

a) Free coagulasi

Koagulasi ini dibebaskan ke dalam medium, perlu aktivasi oleh faktor plasma atau CRF (*Coagulasi Reacting Factor*) untuk mengubah fibrinogen menjadi fibrin, dipakai plasma darah kelinci, serta tes dilakukan di dalam tabung.

b) *Bound coagulase (Clumping factor)*

Koagulase ini tidak didapatkan di dalam filtrat kultur, tidak memerlukan CRF (*Coagulase Reacting Factor*), dipakai plasma darah manusia, serta tes dilakukan pada gelas objek (Dzen *et al.*, 2010).

Tes koagulase sangat penting untuk menentukan patogenisitas *Staphylococcus*. Pada umumnya *S. aureus* memberikan tes koagulase yang positif. Bila hasil tes koagulase pada gelas objek negatif, harus dilanjutkan dengan tes koagulase tabung (Dzen *et al.*, 2010). Bakteri yang dapat menghasilkan koagulase dianggap mempunyai potensi menjadi patogen invasif (Brooks *et al.*, 2007).

3) Hialuronidase

Enzim ini terutama dihasilkan oleh koagulosa positif. Dengan adanya enzim ini, maka akan mempermudah penyebaran bakteri. Oleh karena itu, enzim ini disebut sebagai *spreading factor* (Warsa, 1994). Enzim ini memfasilitasi penyebaran infeksi (Vasanthakumari, 2007). Dengan menghasilkan hialuronidase maka bakteri bersifat invasif, tapi sifat ini terjadi pada fase awal dari infeksi dan cepat dinetralkan pada reaksi peradangan (Dzen *et al.*, 2010).

4) Stafilokinase atau fibrinolisin

Enzim ini dapat melisiskan bekuan darah dalam pembuluh darah yang sedang meradang, sehingga bagian-bagian dari bekuan yang penuh kuman terlepas dan menyebabkan terjadinya lesi metastatik di tempat lain (Warsa, 1994). Enzim ini bersifat antigenik dan tidak tahan panas (*heat labile*) (Dzen *et al.*, 2010).

5) Protease

Enzim ini bersifat proteolitik dan dapat menyebabkan nekrosis pada jaringan yang diinvasi, termasuk jaringan tulang (Dzen *et al.*, 2010).

6) Lipase

Enzim ini bersifat antigenik. Pada inokulasi *S. aureus* galur tertentu pada *Blood Agar Plate* (BAP) darah manusia, terlihat pada permukaan koloni terdapat bercak-bercak lemak yang tersusun dari asam oktadekanoat. Ini terjadi karena lipase memutuskan ikatan asam ini dengan lipid (Dzen *et al.*, 2010). Enzim ini dapat membantu bakteri untuk menginfeksi kulit dan jaringan subkutan (Vasanthakumari, 2007).

7) Fosfatase

Fosfatase erat hubungannya dengan patogenisitas dan galur koagulase positif pada umumnya menghasilkan lebih banyak fosfatase daripada galur koagulase negatif. Namun kadang-kadang, ada juga galur koagulase negatif yang menghasilkan fosfatase lebih banyak. Oleh karena itu, fosfatase tidak bisa dijadikan indikator patogenisitas (Dzen *et al.*, 2010).

8) DNase

Enzim ini dapat tahan dengan pemanasan (*heat resistant*) dan diproduksi oleh sebagian besar galur *S. aureus*, sehingga dapat juga dipakai untuk menentukan spesies dari *Staphylococcus*. DNase memecah DNA menjadi fosfomononukleotida. Enzim ini merupakan suatu protein yang kompak yang terdiri atas rantai polipeptida tunggal dan terdapat pada permukaan sel. Aktivitas DNase dapat diketahui dengan menanam bakteri pada *deoxyribonuclease test medium*. Setelah dieramkan pada 37°C selama 24-36 jam, koloni yang tumbuh dituangi 1 N HCl atau 0,1% toluidin biru. Bila nampak daerah terang (halo) pada

penuangan HCl atau merah rose dengan toluidin biru di sekitar koloni, ini menunjukkan bahwa bakteri menghasilkan enzim deoksiribonuklease (DNase) (Dzen *et al.*, 2010).

2.1.6.2 Eksotoksin

Eksotoksin dari *S. aureus* bersifat mematikan, tidak tahan panas (*thermo labile*), dan dapat menyebabkan nekrosis lapisan dermis (Dzen *et al.*, 2010).

Beberapa eksotoksin dapat dipisahkan melalui elektroforesis, yaitu sebagai berikut:

a. Toksin alfa (α -toxin)

Toksin alfa merupakan protein heterogen yang bekerja dengan spektrum luas pada membran sel eukariot (Brooks *et al.*, 2007). Toksin alfa bersifat mematikan leukosit dan makrofag (*leucocidal*). Dapat menyebabkan lisis eritrosit kelinci dan merusak trombosit. Pada penyuntikan intrakutan dapat menyebabkan nekrosis dan mempunyai efek letal. Toksin alfa ini dapat dipakai untuk menentukan virulensi (Dzen *et al.*, 2010).

Sifat toksin alfa dapat dinetralkan oleh IgG, tetapi tidak oleh IgA atau IgM. Semua efek dari toksin alfa terjadi karena pelepasan anion dengan fosfolipid yang terdapat dalam membran sel bakteri. Setelah diolah dengan formalin toksin ini dapat diolah menjadi toksoid (Warsa, 1994).

b. Toksin beta (β -toxin)

Toksin beta dapat menguraikan sfingomielin sehingga toksik untuk berbagai sel, termasuk sel darah manusia (Brooks *et al.*, 2007). Toksin ini terutama dihasilkan oleh jenis yang berasal dari hewan. Dapat menyebabkan terjadinya *hot-cold lysis* pada sel darah merah domba dan sapi. Dalam hal ini lisis

baru terjadi setelah pengeraman 1 jam pada suhu 37°C dan 18 jam pada suhu 10°C. Toksin ini dapat dibuat toksoid (Warsa, 1994).

c. Toksin delta (δ -toxin)

Toksin delta bersifat heterogen dan terurai menjadi beberapa subunit pada detergen nonionik. Toksin tersebut dapat mengganggu membran biologik dan dapat berperan pada penyakit diare akibat *S. aureus* (Brooks *et al.*, 2007). Toksin ini bersifat non-toksik, dapat merusak sel eritrosit manusia dan kuda (Dzen *et al.*, 2010).

d. Panton-Valentine (PV) atau leukosidins

Toksin ini bersifat tahan terhadap pemanasan, non-hemolitik dan dinetralkan oleh kolesterol. Metabolit ini dapat mematikan sel darah putih (*leucocidal*) semua spesies kecuali biri-biri dan bisa dihasilkan oleh beberapa galur koagulase positif (Dzen *et al.*, 2010).

2.1.6.3 Enterotoksin

Enterotoksin tahan terhadap panas dan resisten terhadap kerja enzim usus. Enterotoksin merupakan penyebab utama keracunan makanan. Enterotoksin dihasilkan bila *S. aureus* tumbuh di makanan yang mengandung karbohidrat dan protein. Ingesti 25 µg enterotoksin B dapat menyebabkan muntah dan diare. Efek muntah dapat terjadi karena stimulasi sistem saraf pusat (pusat muntah) setelah toksin bekerja pada reseptor saraf di usus (Dzen *et al.*, 2010).

2.1.6.4 Toksin Epidermolitik

Toksin epidermolitik dapat menyebabkan timbulnya *scalded skin syndrome*. Sindroma ini meliputi pengelupasan epidermis kulit sebagai akibat lisisnya perlekatan antar sel pada *stratum germinativum*, tanpa disertai radang

dan kematian sel (Dzen *et al.*, 2010). Toksin ini merupakan suatu protein yang tahan panas namun tidak tahan terhadap asam. Toksin ini dianggap sebagai penyebab dermatitis eksfoliativa pada neonatus (*Ritter's disease*), impetigo bulosa, *Staphylococcal scarlatiniform rash*, dan toksin epidermal nekrosis pada orang dewasa (Warsa, 1994).

2.1.6.5 Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (TSST-1)

Toksin ini menimbulkan sindrom klinik berupa panas (febris), ruam kulit, hipotensi bahkan hingga syok. Diperkirakan toksin ini merangsang sel imunokompeten dalam jumlah yang cukup banyak, sehingga digolongkan sebagai superantigen (Dzen *et al.*, 2010). Toksin ini diproduksi oleh sekitar 1% *strain* dari *Staphylococcus*. Toksin ini merupakan superantigen yang memicu mitosis dari limfosit T sehingga terjadi produksi sitokin yang masif yang akhirnya memunculkan gejala toksik syok (Kayser *et al.*, 2005).

2.1.7 Patogenesis

Secara umum, patogenesis infeksi *S. aureus* terbagi menjadi infeksi invasif, toksikosis, dan bentuk campuran. Pada tipe invasif, *S. aureus* cenderung untuk tetap berada pada tempat infeksi primer setelah berpenetrasi melalui kulit atau mukosa sehingga terjadi infeksi lokal yang ditandai sekret purulen dan abses. Contoh infeksi lokal *S. aureus* adalah *furuncle*, *carbuncle*, infeksi pada luka, *sinusitis*, *otitis media*, dan *mastitis puerperalis*. Infeksi invasif juga bisa terjadi setelah operasi jantung khususnya penggantian katup, *pneumonia post-influenza*, dan *sepsis* pada pasien dengan status imun rendah (Kayser *et al.*, 2005).

Tipe kedua adalah tipe toksikosis. Pada tipe ini dapat menyebabkan keracunan makanan. Keracunan makanan diakibatkan oleh hasil dari

pencernaan makanan yang telah terkontaminasi oleh enterotoksin. Hal ini ditandai adanya mual, muntah, dan diare berat beberapa saat setelah makan (Kayser *et al.*, 2005).

Tipe terakhir yaitu tipe campuran. Beberapa manifestasi klinis patogenesis tipe campuran antara lain *dermatitis exfoliative (Staphylococcal Scalded Skin Syndrome/Ritter disease)*, *pemphigus neonatorum*, dan *bullous impetigo* yang disebabkan oleh toksin eksfoliatif. Sedangkan manifestasi klinis dari TSST-1 adalah *toxic shock syndrome* berupa hipotensi, demam, dan lesi kulit *scarlatiniform* (Kayser *et al.*, 2005).

2.1.8 Transmisi

Cara penularan infeksi *S. aureus* tergantung pada bentuk klinis:

- 9) Kontak langsung, terjadi pada peradangan yang menyerang kulit dan kuku. Penularan ini terjadi apabila kulit dalam keadaan tidak intak, misalnya ada lesi.
- 10) Penularan lewat udara (*airborne infection*) (Dzen *et al.*, 2010).

2.1.9 Manifestasi Klinis

Manifestasi klinis akibat akibat *S. aureus* dapat dibedakan menjadi:

- Infeksi purulen lokal, meliputi: *furuncle*, *carbuncle*, *bullous impetigo*, infeksi pada luka, *sinusitis*, *otitis media*, dan *mastitis puerperalis*, *otitis*, pneumonia pasca influenza, sepsis.
- *Toxin-caused illnesses*, meliputi: keracunan makanan, dermatitis eksfoliatif, *toxic shock syndrome* (Kayser *et al.*, 2005).

S. aureus adalah penyebab tersering infeksi nosokomial, terutama infeksi luka pasca operasi (*post-operative wound infection*). *S. aureus* juga dapat menyebabkan infeksi saluran urinaria (*urinary tract infections*), infeksi saluran

pernapasan bawah (*lower respiratory tract infections*), sepsis primer, dan infeksi lainnya (Kayser *et al.*, 2005). Selain itu, *S. aureus* merupakan penyebab terbanyak dari bakterimia yang dapat menyebabkan morbiditas dan mortalitas dibandingkan dengan patogen lainnya (Naber, 2009).

S. aureus bisa menimbulkan infeksi luka episiotomi dan merupakan bakteri Gram positif terbanyak yang menyebabkan infeksi luka episiotomi pada ibu nifas (Romi, 2009). *S. aureus* juga merupakan bakteri yang biasa ditemukan pada infeksi luka bekas operasi *caesar* (Thurman, 2010).

2.1.10 Uji Laboratorium Diagnosis

2.1.10.1 Spesimen

Spesimen untuk pemeriksaan laboratorium diagnosis *S. aureus* dapat diperoleh dari berbagai tempat pada tubuh dengan cara *swabbing*. Diantaranya yaitu usapan permukaan, pus, darah, aspirat trakea, cairan spinal untuk biakan, atau tergantung pada lokalisasi proses (Brooks *et al.*, 2007).

2.1.10.2 Biakan

Spesimen yang ditanam di cawan agar darah (*blood agar plate*) membentuk koloni yang khas dalam 18 jam pada suhu 37°C, tetapi tidak menghasilkan pigmen dan hemolisis sampai beberapa hari kemudian dan dengan suhu ruangan yang optimal. *S. aureus* memfermentasikan manitol, tetapi *Staphylococcus* lainnya (*S. epidermidis* dan *S. saprophyticus*) tidak. Spesimen yang terkontaminasi dengan flora campuran dapat dibiakkan di medium yang mengandung NaCl 7,5%, garam menghambat pertumbuhan sebagian besar flora normal tetapi tidak menghambat *S. aureus*. Agar garam manitol digunakan digunakan untuk memindai *S. aureus* yang berasal dari hidung (Brooks *et al.*, 2007).

2.1.10.3 Uji Katalase

Setetes larutan hidrogen diletakkan di gelas objek, dan sedikit pertumbuhan bakteri yang diletakkan di dalam larutan tersebut. Terbentuknya gelembung (pelepasan oksigen) menandakan uji yang positif. Uji ini juga dapat dilakukan dengan menuangkan larutan hidrogen peroksida di atas bakteri yang tumbuh subur di agar miring dan meneliti adanya gelembung yang muncul (Brooks *et al.*, 2007).

2.1.10.4 Uji Koagulase

Plasma kelinci atau manusia yang mengandung sitrat dan diencerkan 1:5, dicampur dengan biakan kaldu atau pertumbuhan koloni pada agar dengan volume yang sama dan diinkubasi pada suhu 37°C. Tabung plasma yang dicampur dengan kaldu steril disertakan sebagai kontrol. Jika terbentuk bekuan dalam 1-4 jam, menandakan tes ini positif. Kepentingan dari tes ini untuk membedakan antara *Staphylococcus* koagulase-positif dan *Staphylococcus* koagulase-negatif (Brooks *et al.*, 2007).

Staphylococcus koagulase-positif dianggap patogen bagi manusia. Namun, *Staphylococcus* koagulase-positif pada anjing (*S. intermedius*) dan lumba-lumba (*S. delphini*) jarang menyebabkan penyakit pada manusia. Infeksi pada peralatan protesis dapat disebabkan oleh organisme koagulase-negatif, kelompok *S. Epidermidis* (Brooks *et al.*, 2007).

2.1.10.5 Uji Sensitivitas

Uji sensitivitas dengan menggunakan pengenceran mikro kaldu atau uji sensitivitas lempeng difusi (*disk diffusion*) seharusnya rutin dilakukan pada isolat *S. aureus* dari infeksi yang bermakna secara klinis. Resistensi terhadap penisilin G dapat dilihat dengan uji β -laktamase yang positif, sekitar 90% *S. aureus*

menghasilkan β -laktamase. Resistensi terhadap nafsilin (termasuk oksasilin dan metisilin) terjadi pada sekitar 20% isolat *S. aureus* (Brooks *et al.*, 2007).

2.1.10.6 Uji Serologi dan Penentuan Tipe

Uji serologi untuk mendiagnosis infeksi *S. aureus* sangat tidak praktis. Pola sensitivitas antibiotik membantu menelusuri infeksi *S. aureus* dan menentukan apakah berbagai isolat *S. epidermidis* dari biakan darah menunjukkan bakterimia akibat *strain* yang sama, yang berasal dari suatu tempat infeksi. Teknik penentuan tipe secara molekular telah digunakan untuk mendokumentasikan penyebaran penyakit epidemik akibat klon *S. aureus* (Brooks *et al.*, 2007). Selain itu, dengan teknik penentuan tipe dapat ditentukan apakah suatu jenis *Staphylococcus* berasal dari hewan atau dari manusia (Warsa, 1994).

2.1.11 Terapi Infeksi *S. aureus*

Pada kasus yang ringan dapat diberikan penisilin G. Sedangkan pada infeksi yang berat atau jika diduga resisten terhadap penisilin, dapat diberikan metisilin atau derivat penisilin lain yang resisten penisilinase. Apabila sudah ada hasil tes laboratorium bisa diberikan obat yang sesuai dengan hasil tes kepekaan tersebut. Pada penderita yang alergi terhadap penisilin, dapat diberikan sefalosporin, eritromisin, linkomisin atau klindamisin. Jika terdapat infeksi yang disebabkan jenis yang resisten terhadap metisilin, maka dapat diberikan vankomisin, rifampisin atau *fusidic acid* juga dapat diberikan asal dalam bentuk kombinasi dengan antibiotik lainnya, karena jika diberikan tersendiri akan cepat terjadi resistensi. Jenis yang resisten terhadap metisilin biasanya juga akan resisten terhadap oksasilin, kloksasilin dan cefalosporin (Warsa, 1994). Vankomisin adalah pilihan obat terakhir untuk infeksi *S. aureus* (Wertheim,

2005). *Fusidic acid* dapat diberikan jika terdapat infeksi lain yang menyertai. Pengobatan *S. aureus* hendaknya berdasarkan pedoman tes sensitivitas bakteri (Gillespie, 2000).

2.1.12 Epidemiologi dan Pengendalian

S. aureus adalah penyebab tersering infeksi baik di komunitas maupun di rumah sakit (Wertheim, 2005). *S. aureus* merupakan parasit manusia yang dapat ditemukan di mana-mana. Sumber utama infeksi adalah lesi yang terbuka, barang-barang terkontaminasi lesi, serta dari saluran napas dan kulit manusia. Penyebaran infeksi melalui kontak langsung dianggap sangat penting di rumah sakit, karena sebagian besar staf tenaga kesehatan atau pasien membawa *S. aureus* yang resisten terhadap antibiotik di dalam hidung atau kulitnya. Kebersihan, higiene, dan manajemen aseptik pada lesi dapat mengendalikan penyebaran *S. aureus* dari lesi. Beberapa metode lain seperti aerosol (misalnya glikol) dan radiasi ultraviolet dapat digunakan untuk mencegah penyebaran *S. aureus* secara luas (Brooks *et al.*, 2007).

Tempat yang berisiko tinggi terdapat infeksi *S. aureus* di rumah sakit adalah perawatan neonatus, unit perawatan intensif, ruang operasi, dan bangsal kemoterapi kanker. *S. aureus* merupakan patogen epidemik yang masuk secara masif pada daerah-daerah tersebut dan dapat menimbulkan penyakit klinis berat. Staf tenaga kesehatan dengan lesi *S. aureus* aktif atau *carrier* mungkin harus dilarang memasuki daerah-daerah tersebut. Pada orang-orang dengan lesi *S. aureus*, pemakaian antiseptik topikal di hidung atau daerah perineal dapat mengurangi penyebaran *S. aureus*. Rifampin yang diberikan bersama dengan obat anti-*Staphylococcus* oral lini kedua kadang-kadang dapat menimbulkan supresi jangka panjang dan mungkin dapat menyembuhkan *carrier* di hidung,

bentuk terapi ini biasanya digunakan untuk masalah besar pada pembawa *S. aureus*, karena *S. aureus* dapat segera menjadi resisten terhadap rifampin (Brooks *et al.*, 2007).

2.1.13 Resistensi Obat

Tahun 1944, sebagian besar *Staphylococcus* rentan terhadap penisilin G namun beberapa *strain* telah resisten. Setelah penggunaan penisilin secara masif, sebanyak 65-85% *Staphylococcus* yang diisolasi dari rumah sakit pada tahun 1948 menghasilkan β -laktamase sehingga resisten terhadap penisilin G. Kemajuan penisilin yang resisten β -laktamase (misal nafsilin) menghentikan infeksi sementara, tetapi masih sering terjadi infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus* yang resisten terhadap nafsilin. Saat ini, *Staphylococcus* yang resisten penisilin tidak hanya ditemukan dalam rumah sakit tetapi 80-90% organisme yang diisolasi dalam komunitas juga resisten terhadap penisilin. Organisme ini juga cenderung resisten terhadap obat lain, misal tetrasiklin. Vankomisin merupakan obat utama yang digunakan untuk pengobatan infeksi *S. aureus* yang resisten nafsilin, tetapi beberapa *strain S. aureus* mempunyai kerentanan intermediet terhadap vankomisin *in vitro* dan kemungkinan resisten secara klinis *in vivo* (Brooks *et al.*, 2007).

Penelitian Mulyadi dan Sulistyani (2013) menyebutkan bahwa *S.aureus* ATCC 26923 resisten terhadap semua antibiotik yang diujikan, diantaranya yaitu ampicilin (AMP), penisilin (P), kloramfenikol (C), tetrasiklin (TE), siprofloksasin (CIP), meropenem (MEM) dan eritromisin (E).

2.1.14 *S. aureus* dari Spesimen Swab Vagina

Pengambilan spesimen yang benar merupakan langkah yang terpenting dalam menentukan diagnosis infeksi (Brooks *et al.*, 2010). Swab vagina yaitu

pengambilan sekret vagina secara langsung dengan cara melakukan usapan pada permukaan vagina menggunakan lidi kapas steril (Dzen *et al.*, 2010).

Penelitian Herawati *et al.* (2006) yang dilakukan terhadap ibu hamil UK>32 minggu di RSUD Dr. Soetomo Surabaya menyatakan bahwa dari hasil pemeriksaan perbenihan hapusan fornix posterior vagina 18 dari 30 sampel (60%) memberikan hasil positif adanya mikroorganisme dan 10% diantaranya adalah *S. aureus*. Selain itu, penelitian Fardi *et al.* (2013) terhadap ibu hamil UK>31 minggu di RSKIA Fatimah Makassar menunjukkan frekuensi kolonisasi mikroflora pada vagina yaitu sebanyak 21 dari 100 sampel (21,4%) merupakan bakteri Gram positif dan *S. aureus* ditemukan paling banyak diantara bakteri Gram positif lainnya (18 sampel). Penelitian tersebut juga menyatakan bahwa umur dan riwayat penggunaan kontrasepsi memiliki hubungan dengan kolonisasi bakteri pada ibu hamil.

2.2 Antibakteri

Antimikroba ialah obat-obat yang digunakan untuk memberantas infeksi mikroba pada manusia (Nattadiputra, 2008). Antimikroba merupakan substansi yang menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri atau mikroorganisme lain (organisme mikroskopik termasuk bakteri, virus, jamur, protozoa, dan riketsia) (Kee dan Hayes, 1996).

Obat antibakteri mempunyai selektif toksisitas yang tinggi karena sel manusia dengan sel bakteri (prokariot) berbeda dalam hal dinding sel, komponen membran sel, struktur ribosom, dan metabolismenya (Dzen *et al.*, 2010).

Antimikroba dapat bersifat:

- Bakteriostatik, yaitu menghambat atau menghentikan pertumbuhan bakteri. Dalam keadaan ini jumlah bakteri menjadi stasioner, tidak terdapat lagi multiplikasi atau perkembangbiakan.
- Bakterisid, yaitu bersifat membunuh bakteri. Dalam hal ini jumlah bakteri akan berkurang atau habis, tidak terdapat lagi multiplikasi atau perkembangbiakan mikroba (Nattadiputra, 2008).

2.2.1 Mekanisme Kerja Obat Antimikroba

Obat antimikroba mempunyai susunan kimiawi dan cara kerja yang berbeda-beda. Antimikroba bekerja dengan mengganggu bagian-bagian mikroba yang peka, antara lain:

2.2.1.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel

Dasar toksisitas selektif dari golongan antimikroba ini terletak pada perbedaan struktur dinding sel prokariot yang terdiri atas peptidoglikan, sedangkan pada sel eukariot tidak memiliki peptidoglikan sehingga golongan obat ini relatif aman sebagai obat antibakteri tetapi tidak mempunyai pengaruh terhadap fungi, parasit, maupun sel hospes. Obat antimikroba yang menghambat pembentukan dinding sel efektif pada saat bakteri sedang aktif membelah. Contoh golongan obat ini adalah antimikroba β -laktam, penisilin, sefalosporin, karbepenem, klavunalat dan sulbaktam (Dzen *et al.*, 2010).

2.2.1.2 Merusak Membran Sel

Membran sel bertugas untuk menjaga komposisi internal dari sel dengan cara berfungsi di dalam permeabilitas selektif dan proses transport aktif. Rusaknya membran sel dapat menyebabkan metabolit penting di dalam sel lolos keluar sel dan berakibat kematian sel. Antimikroba yang merusak membran sel

adalah polimiksin-B, golongan poliene (amfoterisin-B), golongan azol (klotrimazol, mikonazol, ketokonazol, itraconazol) (Dzen *et al.*, 2010).

2.2.1.3 Menghambat Sintesis Protein

Dasar toksisitas selektif dari obat antimikroba yang menghambat sintesis protein adalah struktur ribosom sel prokariot (ribosom 70S) berbeda dengan sel eukariot (ribosom 80S). Namun demikian, perlu diingat bahwa mitokondria sel eukariot berisi ribosom 70S. Ribosom 70S bakteri tersusun dari unit 50S dan 30S. Antimikroba yang bekerja pada unit ribosom 50S adalah kloramfenikol dan linkomisin dengan cara menghambat perpanjangan rantai polipeptida, serta eritromisin yang mekanisme kerjanya mencegah perjalanan ribosom di sepanjang mRNA. Antimikroba yang bekerja pada unit 30S adalah streptomisin dengan cara mengubah bentuk ribosom sehingga bentuk kodon juga berubah, mengakibatkan *misreading* oleh antikodon pada tRNA. Tetrasiklin bekerja pada unit ribosom 30S dengan cara mengganggu perlekatan tRNA pada kompleks mRNA-ribosom (Dzen *et al.*, 2010).

2.2.1.4 Menghambat Sintesis Asam Nukleat

Antimikroba ini dapat bekerja dengan cara menghambat sintesis mRNA pada proses transkripsi misalnya rifampisin atau menghambat replikasi DNA pada proses pembelahan sel. Yang termasuk golongan ini adalah asam nalidiksik, senyawa kuinolon dan mitomisin. Rifampisin bekerja dengan cara mengikat kuat enzim *DNA-dependent RNA polymerase*. Sedangkan senyawa kuinolon (siprofloksasin, ofloksasin, norfloksasin) mengganggu enzim *DNA-gyrase* yang berperan pada proses replikasi DNA (Dzen *et al.*, 2010).

2.2.1.5 Antagonis Metabolit

Aktivitas enzim seringkali dihambat oleh senyawa yang mempunyai struktur mirip substrat asalnya. Senyawa penghambat ini bergabung dengan enzim sedemikian rupa sehingga dapat mencegah reaksi enzim dengan substrat dan reaksi-reaksi katalitik. Kebanyakan senyawa penghambat tersebut bersifat analog dengan faktor-faktor pertumbuhan bakteri misalnya vitamin, asam amino, purin, dan pirimidin. Senyawa penghambat seperti ini disebut senyawa anti metabolit. Mekanisme kerja senyawa anti metabolit adalah dengan cara menghambat secara kompetitif (*competitive inhibition*) terhadap sintesis metabolit esensial. Pada umumnya, senyawa anti metabolit bersifat bakteriostatik. Contoh golongan obat ini adalah sulfonamid, trimetoprim dan pirimetamin (Dzen *et al.*, 2010).

2.2.2 Mekanisme Terjadinya Resistensi

Beberapa mekanisme yang menyebabkan suatu populasi bakteri menjadi resisten terhadap antimikroba, antara lain:

- 11) Mikroba memproduksi enzim yang merusak obat
- 12) Mikroba mengubah permeabilitas membran selnya
- 13) Mikroba mengubah struktur target terhadap obat
- 14) Mikroba mengembangkan jalan metabolisme baru
- 15) Mikroba mengembangkan enzim yang tetap berfungsi untuk metabolismenya, tetapi tidak dipengaruhi obat
- 16) Mikroba memperbesar produksi bahan metabolit (Dzen *et al.*, 2010).

2.3 Tanaman Ketapang (*Terminalia catappa*)

Salah satu bahan alami yang berpotensi sebagai bahan antibakteri adalah daun ketapang (Wahjuningrum *et al.*, 2008). Tanaman ketapang (*Terminalia catappa*) juga biasa dikenal dengan *tropical-almond* atau *india-almond* (Gilman and Watson, 1994). Ketapang sering ditanam sebagai pohon penayang di daerah hangat. Buahnya dapat dimakan dan pohon ini kadang ditanam di sejumlah daerah sebagai sumber makanan (Wulan, 2012). Kayunya dapat digunakan untuk membuat rumah atau perahu. Kulit kayu dan daun serta terkadang akar dan buahnya yang hijau digunakan untuk penyamakan bahan kulit dan pewarna hitam untuk mewarnai katun dan rotan (Lemmens and Soetjipto, 1992).



Gambar 2.3 Pohon ketapang (*Terminalia catappa*) (Richards, 2004).

2.3.1 Taksonomi

Taksonomi tanaman ketapang (*Terminalia catappa*):

Kingdom : Plantae

Phylum : Tracheophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Ordo : Myrtales
 Family : Combretaceae
 Genus : Terminalia
 Spesies : *Terminalia catappa* (Hassler, 2015).

2.3.2 Penyebaran dan Habitat

Tumbuhan ketapang (*Terminalia catappa* L.) hidup tersebar di seluruh pantai di daerah tropis (Neelavathi *et al.*, 2013). Ketapang merupakan tumbuhan asli Asia Tenggara dan banyak terdapat di Indonesia (Sine, 2012). Tanaman ini dapat tumbuh pada dataran rendah sampai dataran tinggi, hutan pantai, hutan rawa dan aliran sungai (Harianto, 2010). Ketapang banyak ditemukan di daerah pantai serta dapat beradaptasi dengan kadar garam dan angin (Kankia, 2014). Ketapang dapat tumbuh di bawah sinar matahari penuh pada tanah yang kering. Tanaman ini yang cukup toleran terhadap angin, garam, dan kekeringan tetapi membutuhkan perlindungan dari suhu beku. Pohon ketapang dapat tumbuh dengan baik jika diberi jerami dan dipupuk dengan teratur (Gilman and Watson, 1994).

Di kepulauan Indonesia ketapang tumbuh liar pada dataran rendah, pantai dan banyak ditemukan dekat dengan daerah pesisir Pulau Jawa hingga ketinggian 800 meter di atas permukaan laut (Zuhrotun *et al.*, 2010). Ketapang (*Terminalia catappa*) termasuk salah satu tanaman yang dapat tumbuh di tanah yang kurang nutrisi dan tersebar hampir diseluruh wilayah Indonesia sehingga mudah untuk dibudidayakan. Selama ini masyarakat hanya mengenal tanaman ketapang sebagai tanaman peneduh kota dan belum banyak dimanfaatkan

sehingga nilai ekonomisnya masih rendah (Riskitavani dan Purwani, 2013). Ketapang dapat tumbuh dengan cepat pada awal penanaman yaitu sekitar 2 meter per tahun (Thomson and Evans, 2006).

2.3.3 Morfologi

Terminalia catappa (Combretaceae) merupakan tanaman obat yang berukuran sedang (Ololade *et al.*, 2014). Tanaman ketapang membentuk cabang lapisan kanopi. Semua bagian tanamannya dapat digunakan dalam pengobatan tradisional (Muhammad dan Mudi, 2011). Tinggi pohon ketapang bisa mencapai 35 meter, pohon tumbuh lurus ke atas, dan cabang berbentuk horizontal (Jagessar and Alleyne, 2011). Batangnya mempunyai diameter hingga 1,5 meter. Kulit kayu berwarna abu abu kecoklatan dan mudah retak. Cabangnya tersusun dalam deretan bertingkat dengan jarak 1-2 meter (Lemmens and Soetjipto, 1992).

Pohon ketapang besar dan kuat serta bisa tahan terhadap angin. Pohon ini juga dapat memproduksi buah yang panjangnya 5-10 cm dengan daging yang tipis dan dikelilingi oleh serabut (Matos *et al.*, 2009). Buah ketapang berbentuk seperti telur, agak gepeng, berwarna hijau hingga kuning dan saat matang berwarna merah (Lemmens and Soetjipto, 1992). Buah dari pohon ketapang berupa kacang. Kacang ini dapat dimakan saat sudah matang, rasanya mirip dengan kacang almond (Jagessar and Alleyne, 2011). Bunga pohon ketapang berada di aksiler yaitu sekitar 8-16 cm, kebanyakan adalah bunga jantan dan sedikit bunga biseksual. Bunganya sangat kecil, berwarna putih kehijauan (Lemmens and Soetjipto, 1992).

Ketapang memiliki daun yang lebar, panjangnya 15-25 cm dan lebar 10-14 cm, bentuknya oval, berwarna hijau gelap mengkilat dan kasar (Jagessar and

Alleyne, 2011). Ujung daun ketapang bulat dan tumpul dan secara berangsur-angsur meruncing (Thomson and Evans, 2006). Daun bergerombol di ujung batang dan tipis seperti kertas (Lemmens and Soetjipto, 1992). Daun muda mempunyai pelapis yang lembut dan rambut coklat. Sedangkan daun tua sebagian besar mengkilat, keras, berwarna hijau tua. Daun akan berwarna kuning cerah dan kemudian merah gelap sebelum daun tersebut gugur. Pohon ketapang akan menggugurkan daunnya pada setiap musim kering atau 2 kali dalam setahun (Thomson and Evans, 2006).

2.3.4 Karakteristik

Kulit kayu ketapang menghasilkan warna kuning kecoklatan hingga abu-abu. Kulit kayu ini mengandung tanin sebesar 11-23%. Kulit kayu dan kayu mengandung *catechin*, *gallic acid*, *ellagic acid*, dan leukosianidin. Pada daun ketapang juga telah diteliti terdapat 12 *hydrolyzable tannins*. Daun dan buah mengandung *gallic acid*, *ellagic acid*, *corilagin*, dan *brevifolin carboxilic acid*. Daging buahnya mengandung 75% *moisture* dan 5% protein. Biji yang dikeringkan dapat menghasilkan minyak sebanyak setengah dari berat biji, minyak ini mengandung beberapa asam lemak seperti asam palmitat (55,5%), asam oleat (23,3%), asam linoleat (7,6%), asam stearat (6,3%), dan *myristic acid* (1,6%). Selain itu, biji ini mengandung protein (25%), gula (6%), dan sekitar 16 asam amino. Hati kayu berwarna merah bata hingga merah kecoklatan, beratnya sedang, dengan volume mencapai 465-675kg/m³, keras tapi tidak tahan lama (Lemmens and Soetjipto, 1992).

2.3.5 Kandungan Daun ketapang (*Terminalia catappa*)



Gambar 2.4 Daun ketapang (*Terminalia catappa*) (Perez, 2015)

Ketapang mengandung fitokimia utama yaitu alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan kuinon (Naz *et al.*, 2007).

1) Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Alkaloid umumnya ditemukan dalam kadar yang kecil dan harus dipisahkan dari campuran senyawa yang rumit yang berasal dari jaringan tumbuhan (Lenny, 2006). Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri diprediksi melalui penghambatan sintesis dinding sel yang akan menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati (Lamothe, 2009).

2) Saponin

Saponin adalah kelompok dari *phytochemical* yang struktur kimianya terdiri dari inti larut lemak (*aglycone*) dimana triterpenoid (C-30) atau steroid netral atau alkaloid (C-27) melekat pada satu atau lebih sisi rantai gula larut air (*glycone*) melalui hubungan ester ke inti *aglycone* di lokasi karbon yang berbeda. Saponin triterpenoid mendominasi pada kedelai, *alfalfa* dan *quillaja*, sedangkan saponin steroid yang dominan di *yucca*, tomat dan gandum (Karimi *et.al.*, 2011). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Nuria *et al.*, 2009). Saponin dapat bekerja menghambat *DNA polymerase* sehingga sintesa asam nukleat terganggu (Francis *et al.*, 2002).

3) Flavonoid

Senyawa flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon. Sebagian besar senyawa flavonoid alam ditemukan dalam bentuk glikosida, dimana unit flavonoid terikat pada suatu gula (Lenny, 2006).

Aktivitas antibakteri flavonoid diantaranya merusak membran sitoplasma (yang disebabkan oleh perforasi dan / atau pengurangan fluiditas membran serta dengan menghasilkan hidrogen peroksida), menghambat sintesis asam nukleat (yang disebabkan oleh penghambatan topoisomerase atau dihidrofolat reduktase), dan menghambat metabolisme energi (disebabkan oleh penghambatan NADH-sitokrom c reduktase dan penghambatan ATP sintase).

Selain itu, flavonoid dapat menghambat sintesis dinding sel (yang disebabkan oleh penghambatan ligase d-alanin-d-alanin) dan menghambat sintesis membran sel (yang disebabkan oleh penghambatan FabG, FabI, FabZ, Rv0636 atau KAS III) (Cushnie and Lamb, 2011).

4) Tanin

Senyawa tanin adalah senyawa *astringent* yang memiliki rasa pahit dari gugus polifenolnya yang dapat mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan protein. Tanin diklasifikasikan menjadi *hydrolyzable tannin* dan *condensed tannins (proanthocyanidins)*. Struktur molekul *hydrolyzable tannin* di tengahnya memiliki gugus karbohidrat (biasanya D-glukosa), merupakan hidroksil dari karbohidrat atau *phenolic esterified* seperti asam gallat (dalam gallotannins) atau asam ellagat (dalam ellagitannins). *Hydrolyzable tannin* yang dihidrolisis oleh asam lemah atau basa lemah menghasilkan karbohidrat dan asam phenolik. *Condensed tannin* dikenal sebagai *proanthocyanidins* merupakan polimer yang terdiri dari 2 sampai 50 (atau lebih) unit flavonoid yang bergabung dengan ikatan karbon-karbon, yang tidak rentan terhadap hidrolisis. Tanin terkondensasi adalah produk polimerisasi flavan-3-ols dan flavan-3,4-diol atau campuran dari dua polimer, yang disebut sebagai "flavans" (Ismarani, 2012).

Tanin memiliki efek antibakteri yaitu dengan menonaktifkan adhesin bakteri, enzim, membran pembungkus bakteri dan protein transport. Ekstrak tanaman yang kaya gallotanin menunjukkan aktivitas penghambatan pada bakteri yaitu dengan afinitas kuat terhadap besi dan menonaktifkan protein membran (Savoia, 2012).

5) Kuinon

Kuinon adalah senyawa berwarna dan mempunyai kromofor dasar seperti kromofor dasar pada benzokuinon, yang terdiri dari 2 gugus karbonil yang berkonjugasi dengan 2 ikatan rangkap. Kuinon untuk tujuan identifikasi dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu benzokuinon (kuinon dengan kromofor yang terdiri dari 2 gugus karbonil yang berkonjugasi dengan 2 ikatan rangkap karbon-karbon), naftokuinon, antrakuinon dan kuinon isoprenoid (Putranti, 2013).

Kuinon terdapat banyak di alam. Kuinon adalah metabolit sekunder dengan potensi sifat antimikroba. Kuinon menyediakan sumber radikal bebas yang stabil dan kompleks ireversibel dengan asam amino nukleofilik dalam protein mikroba dan menghilangkan fungsinya. Antrakuinon secara khusus memiliki spektrum besar aktivitas antibakteri (juga antimikobakterial), kuinon dapat menginaktivasi dan menghilangkan fungsi protein bakteri, seperti adhesins, polipeptida dinding sel dan membran-terikat enzim, sehingga menyebabkan kematian patogen (Savoia, 2012).

2.3.6 Manfaat Daun ketapang (*Terminalia catappa*)

Berbagai ekstrak dari daun ketapang telah diteliti dan menunjukkan aktivitas antikanker, antioksidan, hepatoprotektif, anti peradangan, antihepatitis, anti-*HIV reverse transcriptase*, antikatarak, afrodisiak dan antidiabetes (Sine, 2012). Selain itu, tanaman ketapang memiliki efek antimikroba, antifungi, dan antimetastatik (Kankia, 2014).

Daun ketapang digunakan untuk pengobatan penyakit kusta atau lepra, mengurangi mual saat perjalanan, mengobati penyakit mata, serta menghentikan perdarahan selama mencabut gigi. Jus daun ketapang dapat digunakan untuk preparat salep *scabies* dan infeksi kulit lainnya, serta dapat mengobati sakit

kepala dan kolik (Rakholiya and Chanda, 2012). Daun ketapang juga dapat dimanfaatkan sebagai obat gangguan perut, terutama sebagai antidiare (Sine, 2012). Di Negara-negara Asia, daun ketapang digunakan sebagai pengobatan dermatitis, hepatitis, dan demam. Tanaman ini juga dapat dimanfaatkan untuk obat gastritis dan infeksi saluran kemih (Kankia, 2014). Kulit kayu, buah, dan daun ketapang sudah digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai penyakit, termasuk penyakit kulit, disentri, sakit kepala dan sakit perut pada anak-anak (Wahjuningrum *et al.*, 2008).

2.4 Uji Aktivitas Antimikroba *In Vitro*

Uji kepekaan antibakteri secara *in vitro* pada dasarnya dapat dilakukan dengan dua cara yaitu metode dilusi dan metode difusi. Selain itu, metode ini dapat digunakan untuk mendeteksi level resistensi dari bakteri (Kayser *et al.*, 2005).

2.4.1 Metode Dilusi

Metode dilusi ada dua macam, yaitu dilusi cair dan dilusi agar.

2.4.1.1 Dilusi Cair (*Broth Dilution*)

Prinsip metode ini yaitu menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sel mikroba yang diuji dengan jumlah tertentu (Dzen *et al.*, 2010). Suspensi bakteri dengan konsentrasi bakteri 10^6 CFU/ml dimasukkan ke dalam masing-masing tabung (Purnama, 2013). Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Setelah itu, seri tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah

Kadar Hambat Minimal (KHM) dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari obat terhadap bakteri uji (Dzen *et al.*, 2010).

2.4.1.2 Dilusi Agar

Metode ini serupa dengan dilusi cair namun perbedaannya pada media yaitu dengan media agar. Pada dilusi agar tiap konsentrasi antimikroba dicampur dengan media agar, lalu ditanami suspensi mikroba (Pratiwi, 2008). Suspensi bakteri dengan konsentrasi bakteri 10^6 CFU/ml dimasukkan ke dalam cawan petri (Silaban, 2009). Pada pengujian metode ini, diperlukan 6 cawan dan 1 cawan sebagai kontrol. Larutan antimikroba dibuat dengan kadar yang menurun dengan menggunakan teknik pengenceran secara seri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Kumar *et al.*, 2010). Setelah selesai diinkubasi, yang perlu dilakukan adalah mengamati dan menghitung pertumbuhan bakteri yang terdapat pada cawan. KHM ditentukan berdasarkan tidak ditemukannya pertumbuhan koloni kuman pada cawan (Therese *et al.*, 2006).

2.4.2 Metode Difusi

Metode difusi dapat dilakukan 3 cara yaitu metode cakram, lubang dan silinder.

2.4.2.1 Difusi Cakram/Difusi Disk

Metode difusi yang paling sering digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba adalah difusi cakram (Kumar *et al.*, 2010). Pada metode difusi cakram, obat dijenuhkan ke dalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung obat tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat

yang telah dicampur dengan mikroba yang diuji (Dzen *et al.*, 2010). Suspensi bakteri yang digunakan yaitu dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml (Mambang *et al.*, 2014). Kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen *et al.*, 2010).

Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut (apakah isolat mikroba sensitif atau resisten terhadap obat), dapat dilakukan melalui dua cara berikut ini:

a. *Cara Kirby Bauer*

Prinsip dari cara *Kirby Bauer* adalah dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee Center for Clinical Laboratory Standard*). Dengan tabel NCCLS ini dapat diketahui apakah bakteri uji masuk dalam kriteria sensitif, sensitif intermediet, atau resisten.

b. *Cara Joan-Stokes*

Prinsip dari cara *Joan-Stokes* adalah dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara ini, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar (Dzen *et al.*, 2010).

2.4.2.2 Difusi Lubang/Sumuran

Difusi lubang yaitu suatu metode yang dilakukan dengan membuat lubang pada agar padat yang telah dicampur dengan bakteri. Suspensi bakteri yang digunakan yaitu dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada

tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmiyati dan Agustini, 2006). Zona hambat merupakan daerah atau wilayah jernih yang tampak di sekeliling lubang sumuran. Semakin besar diameter zonanya, berarti semakin besar daya antimikrobanya (Rabbani *et al.*, 2014).

2.4.2.3 Difusi Silinder

Difusi silinder yaitu suatu metode yang dilakukan dengan meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah dicampur dengan suspensi bakteri 10^8 CFU/ml. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder (Kusmiyati dan Agustini, 2006).

2.5 Ekstraksi

2.5.1 Definisi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut (Depkes RI, 2000). Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (BPOM RI, 2005).

2.5.2 Metode Ekstraksi

Ada beberapa metode ekstraksi, yaitu cara dingin dan cara panas (Depkes RI, 2000).

2.5.2.1 Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (suhu kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyairan sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak), terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) (Depkes RI, 2000).

2.5.2.2 Cara Panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan dalam jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

b. Sokhlet

Sokhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

d. Infus

Infus adalah ekstraksi menggunakan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama 15-20 menit.

e. Dekok

Dekok adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90°C selama 30 menit (Depkes RI, 2000).

2.5.3 Ekstraksi Maserasi Daun Ketapang (*Terminalia catappa*)

Ekstraksi dilakukan untuk menarik semua komponen yang terdapat dalam daun ketapang. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Metode maserasi adalah metode perendaman atau pengadukan dengan menggunakan pelarut pada suhu ruangan (Depkes RI, 2000). Metode maserasi memiliki beberapa kelebihan yaitu tidak adanya proses pemanasan sehingga senyawa-senyawa yang bersifat labil tidak menjadi rusak atau hilang, cara pengerjaannya mudah, peralatannya sederhana dan mudah didapatkan (Wardhani dan Sulistyani, 2012).

Pembuatan ekstrak daun ketapang dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol karena etanol dapat mengambil bahan aktif dalam daun ketapang dengan efektif. Senyawa aktif dalam daun ketapang bersifat polar sehingga akan larut pada pelarut polar juga, seperti etanol (Susanti *et al.*, 2014). Selain itu, penelitian sebelumnya telah menyebutkan bahwa ekstrak etanol dan ekstrak air

daun ketapang sama-sama menunjukkan adanya aktivitas antimikroba terhadap mikroba yang diujikan. Namun, diameter hambat ekstrak etanol daun ketapang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak air daun ketapang (Suganda *et al.*, 2004).